

利用 SRAP 标记分析中国野生石蒜的遗传多样性^{*}

袁菊红¹, 胡绵好², 夏冰^{3**}

(1 江西财经大学园林系, 江西 南昌 330032; 2 江西财经大学资环系, 江西 南昌 330032;

3 江苏省·中国科学院植物研究所 (南京中山植物园), 江苏 南京 210014)

摘要: 采用 SRAP (Sequence-related amplified polymorphism, 序列相关扩增多态性) 标记对中国 13 个省 24 份野生石蒜 (*Lycoris radiata*) 资源 94 个样品进行了检测。10 个引物组合共扩增出 218 条带, 其中 173 条为多态性条带, 多态性百分比达 79.36%。石蒜的观测等位基因数 (na)、有效等位基因数 (ne)、基因多样性指数 (h)、Shannon 信息指数 (I) 分别为 1.7936、1.4131、0.2415 和 0.3664。石蒜不同种源间的遗传分化系数 (G_{st}) 达 0.9547、基因流 (N_m) 仅 0.0136, 表明种源间遗传分化显著, 遗传变异主要存在于种源间。根据 Nei's 遗传距离对 24 份种源进行 UPGMA 聚类, 所有石蒜种源聚成两大类, 第 I 大类由 7 份种源组成, 除江苏连云港的石蒜 (JS3) 外, 均来自我国西南或西北地区; 其余的 17 份种源构成第 II 大类, 它们遍及华南、华中和华东地区; 各大类中的分支结果与野生石蒜外部形态及生长发育习性有一定联系。将石蒜种源的遗传多样性与其所处的经度、纬度、海拔、年均降雨量、年均温等进行相关性分析, 结果显示它们之间的相关性均不显著, 即石蒜对环境依赖性小, 能分布在各种生境中。根据以上结果, 我们认为野生石蒜具有较丰富的遗传多样性, 而种源间遗传分化显著的原因主要是基因流的隔离。研究结果对我国的野生石蒜资源的开发利用与保护有重要意义。

关键词: 石蒜; SRAP 标记; 遗传多样性; 遗传分化

中图分类号: Q 16

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700(2010) 03-255-08

Genetic Diversity of Wild *Lycoris radiata* (Amaryllidaceae) from China Revealed by SRAP

YUAN Ju-Hong¹, HU Mian-Hao², XIA Bing^{3**}

(1 Landscape Architecture Department of Jiangxi University of Finance and Economics, Nanchang 330032, China;

2 Resource and Environment Department of Jiangxi University of Finance and Economics, Nanchang 330032, China;

3 Institute of Botany Jiangsu Province & Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Genetic diversity of 24 wild *Lycoris radiata* collected from different localities in China was examined by sequence-related amplified polymorphism (SRAP). Two hundred and eighteen loci were identified with 10 SRAP primer combinations, out of which 173 were polymorphic and accounted for 79.36% of total genetic diversity at species level. Observed number of alleles (na), effective number of alleles (ne), Nei's gene diversity (h) and Shannon information index (I) were 1.7936, 1.4131, 0.2415 and 0.3664, respectively. The coefficient of gene differentiation (G_{st}) and gene flow (N_m) were 0.9547 and 0.0136, suggesting that most of variation occurred among different resources of *L. radiata*, and the genetic showed significant differentiation. UPGMA cluster analysis of the 24 resources based on Nei's genetic distance showed two major clusters. Cluster I included 7 resources from southwest and northwest China, except for Jiangsu, Lianyunga-

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370292); 江苏省道地药材种质资源库建设 (BM2006104)

^{**} 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: bingxia@mail.cnbg.net

收稿日期: 2009-08-30, 2010-01-14 接受发表

作者简介: 袁菊红 (1975—) 女, 博士, 讲师, 主要从事植物种质资源评价与遗传多样性研究。E-mail: yjh97@jxufe.edu.cn

ng resource (JS3). Cluster II included the rest 17 resources from south China to east China. The subgroups exhibited related to the morphology and habit of different resources of *L. radiata* to some extent. There was no significant correlation between genetic diversity and longitude, altitude, latitude, annual rainfall, and annual average temperature. The results suggested that the genetic diversity of wild *L. radiata* was high and the possible reasons for significant genetic differentiation might due to the very low gene flow. The results of this study might be useful for guiding the exploitation and conservation of germplasm of *L. radiata*.

Key words: *Lycoris radiata*; SRAP marker; Genetic diversity; Genetic differentiation

石蒜 *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb. 为石蒜科石蒜属 *Lycoris* 植物, 其花色鲜红、花形优美, 叶丛生、深绿色, 不仅是优良的观赏植物, 而且还是重要的药用资源植物 (肖培根, 2001)。石蒜主要分布于中国、日本、韩国, 其中以中国资源最为丰富, 遍及 15 个省区 (裴鉴和丁志遵, 1985)。研究表明, 石蒜染色体倍性复杂, 是形成石蒜属内天然杂交种的重要亲本, 在该属中具有重要的分类地位 (邵建章等, 1994; 秦卫华, 2004; Lin 等, 1990)。我们已对不同产地的野生石蒜进行了引种观察试验, 发现其在外形形态、生长发育习性以及次生代谢产物加兰他敏含量等方面存在较大差异 (袁菊红等, 2009)。SRAP 标记是一种基于 PCR 的标记系统, 用于扩增启动子或内含子与外显子之间的序列, 不同生物或不同个体间, 内含子或启动子及外显子的长度不同, 存在丰富的多态性 (Li and Quiros, 2001)。近年来, 已在野牛草 (*Buchloe dactyloides* (nutt.) Englem.)、西葫芦 (*Cucurbita pepo* L.)、黄瓜 (*Cucumis sativus* L.)、莲属 (*Nelumbo*) 等植物的种质资源遗传多样性研究中被广泛应用 (Budak 等, 2004a; Ferriol 等, 2003; 李丽等, 2006; 刘月光等, 2006)。近年来, 利用分子标记研究石蒜属种间亲缘关系的较多, 但研究种质资源遗传多样性的较少, 尚未见 SRAP 分子标记的研究报道。本文利用 SRAP 标记对分布于中国 13 个省 24 个种源地的野生石蒜的遗传多样性进行分析, 探讨不同地理种源的石蒜以及同一种源不同样品间 DNA 水平上的遗传差异; 分析这些差异是否与其外部形态、生长发育习性和次生代谢产物加兰他敏含量有关; 这些差异是否与其地理气候环境有关。从而了解我国野生石蒜资源的遗传背景, 为其种质资源研究和育种提供分子生物学依据。

1 材料与方法

1.1 试材及取样

2004~2006 年于中国广东、广西、贵州、湖南、湖北、江西、福建、浙江、江苏、安徽、陕西、四川、云南共 13 个省 24 个样点采集野生石蒜资源。参照居群采样方法, 每间隔 5 m 以上采集 5 个石蒜鳞茎, 作为一个样品, 每个点采集 3~4 个样品, 编号后种植于江苏省中国科学院植物研究所种质资源圃 (表 1)。秋季出叶后, 取每个样品中所有个体的健康幼叶, 经等量混合后提取总 DNA (Gilbert 等, 1999; 邓传良等, 2006)。

1.2 SRAP 扩增及扩增产物检测

石蒜总 DNA 提取及 SRAP 引物筛选参照袁菊红等 (2007) 方法。从 49 个引物组合选出扩增条带清晰稳定、多态性丰富的 10 个引物组合即 me1+em1, me1+em6, me1+em5, me4+em1, me4+em5, me4+em6, me6+em1, me7+em3, me3+em3 和 me2+em5 用于本试验样品的扩增。采用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染法对扩增产物进行检测 (袁菊红等, 2007)。

1.3 数据分析

对供试 94 份样品扩增的电泳带总数和多态性条带进行统计。同一位点谱带“有”为 1, “无”记为 0, 得到原始数据表征矩阵。以 POPGENE3.2 软件 (Yeh 等, 1997) 在假定哈迪-温伯格平衡条件下计算出观测等位基因数 (n_a)、有效等位基因数 (n_e)、基因多样性指数 (h)、Shannon 信息指数 (I), 并得到不同种源间的遗传距离 (GD) 和遗传相似系数 (GS) 矩阵。采用 TFPGA 软件包中的非加权配对算术平均法 (UPGMA) 构建分子系统树状图。并用 SPSS12.0 计算石蒜种源的遗传多样性与其所处的经度、纬度、海拔、降雨量、年均温之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 野生石蒜资源 SRAP-PCR 扩增多态性

对 24 份野生石蒜资源 94 个样品进行扩增, 结果显示多态性较为丰富, DNA 片段集中分布在 100~400 bp 之间 (图 1)。所有样品共扩增出 218 条带, 其中 173 条为多态性条带, 多态位点百分率达 79.36%。

表1 野生石蒜资源的采集地和地理气候资料

Table 1 Localities and geographic and climatic data of wild *L. radiata* resources

石蒜资源 Name of resources	采集地 Localities	样品序号 Accessions No	经度 Longitude (E)	纬度 Latitude (N)	海拔 Altitude (m)	年降雨量* Annual rainfall (mm)	年均温* Annual average temperature (°C)
GD1	广东乐昌 Lechang, Guangdong	1~4	113°14'	25°26'	259	1522	19.6
GD2	广东坪石 Pingshi, Guangdong	5~8	113°34'	25°31'	300	1522	19.6
GX1	广西雁山 Yanshan, Guangxi	9~12	110°17'	25°05'	149	1949	18.9
GX2	广西全州 Quanzhou, Guangxi	13~16	111°06'	25°51'	84	1492	17.7
HN1	湖南宜章 Yizhang, Hunan	17~20	113°58'	25°25'	400	1385	17.8
HN2	湖南郴州 Chenzhou, Hunan	21~24	113°06'	25°55'	259	1452	17.4
HN3	湖南临武 Linwu, Hunan	25~28	112°33'	25°18'	400	1385	17.2
HN4	湖南衡山 Hengshan, Hunan	29~32	112°50'	27°11'	84	1660	18.2
GZ1	贵州安顺 Anshun, Guizhou	33~36	105°54'	26°11'	1371	1360	14.0
GZ2	贵州遵义 Zunyi, Guizhou	37~40	107°46'	27°42'	782	1097	15.2
GZ3	贵州关岭 Guanling, Guizhou	41~44	105°36'	25°57'	1059	849	18.4
JX1	江西武宁 Wuning, Jiangxi	45~48	115°10'	29°26'	32	1450	16.5
JX2	江西龙南县 Longnan, Jiangxi	49~52	114°22'	24°29'	300	1753	19.5
HB	湖北武当山 Wudangshan, Hubei	53~56	110°42'	32°36'	900	830	15.2
ZJ	浙江临安 Linan, Zhejiang	57~60	120°04'	30°12'	300	1319	17.0
FJ	福建明溪 Mingxi, Fujian	61~64	117°18'	26°36'	400	1700	19.2
JS1	江苏江宁 Jiangning, Jiangsu	65~68	118°47'	32°03'	50	1021	15.7
JS2	江苏宜兴 Yixing, Jiangsu	69~72	119°49'	31°37'	300	1076	15.7
JS3	江苏连云港 Lianyungang, Jiangsu	73~76	119°48'	35°07'	200	956	14.0
SX	陕西城固 Chenggu, Shaanxi	77~80	107°32'	33°16'	1231	1300	14.2
SC	四川忠县 Zhongxian, Sichuan	81~84	108°03'	30°33'	350	1200	18.0
YN	云南大理 Dali, Yunnan	85~88	99°58'	25°25'	2000	1079	15.1
AH1	安徽广德 Guangde, Anhui	89~91	119°24'	30°54'	518	1350	15.6
AH2	安徽休宁 Xiuning, Anhui	92~94	118°19'	29°48'	700	1750	16.1

* 年降雨量和年均温为 7 年平均值。* Means of 7 years between 2000 and 2007

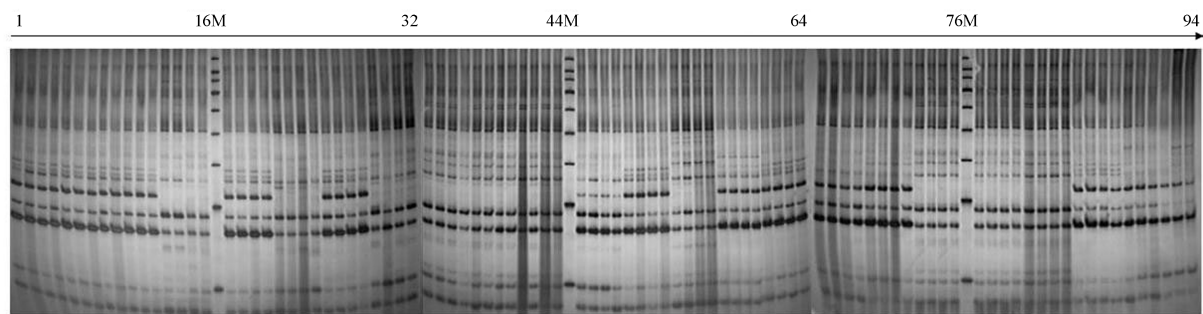


图1 引物组合 me7+em3 对供试样品的扩增图谱

Fig. 1 SRAP amplification products generated from primers me7 and em3 combination in wild *L. radiata* resources

注：样品系列号 1~94 同表 1；M：分子量标准（Note: Accessions No. 1—94 were the same as those in table 1; M: 50 bp DNA ladder）

每引物组合的扩增条带数在 15~27 之间，平均扩增出 21.8 条带。各引物组合检测到的多态性条带百分率（PPB）和 Shannon 信息指数（*I*）的大小不同，含有 em5 的引物组合的 Shannon 信息指数较高（表 2）。

24 份野生石蒜资源中，多态谱带比率以贵州（GZ1、GZ2、GZ3）最高，达 37.61%，其

次是四川忠县（SC），为 36.70%，江苏连云港（JS3）为 35.32%，位居第三，多态位点比率最低的是安徽广德的石蒜（AH1），只有 25.69%（表 3）。SRAP 标记在广东坪石（GD2）、广西全州（GX2）、安徽（AH1、AH2）共 11 份石蒜种源的样品间检测到一定的遗传变异，同一种源内样品间变异最大的是 JX1（6.88%），最小

表2 SRAP 引物对24 份野生石蒜资源的扩增结果

Table 2 Amplification result from 24 wild resources of *L. radiata*

SRAP 引物组合 SRAP primer combinations	序列 5'→ 3' Sequences 5'→ 3'	总位点 Total sites	多态性位点 Polymorphic sites	多态性百分比 Percentage of polymorphic bands	Shannon 信息指数 (I) Shannon's information index (I)
me1+em1	TGAGTCCAAACCGGATA GACTGCGTACGAATTCAA	27	22	81.48	0.3558
me1+em6	TGAGTCCAAACCGGATA GACTGCGTACGAATTGCA	17	12	70.59	0.2658
me1+em5	TGAGTCCAAACCGGATA GACTGCGTACGAATTAAC	26	24	92.31	0.4059
me4+em1	TGAGTCCAAACCGGACA GACTGCGTACGAATTCAA	25	20	80.00	0.3603
me4+em5	TGAGTCCAAACCGGACA GACTGCGTACGAATTAAC	23	19	82.61	0.4596
me4+em6	TGAGTCCAAACCGGACA GACTGCGTACGAATTGCA	22	16	72.73	0.3214
me6+em1	TGAGTCCAAACCGGAGA GACTGCGTACGAATTCAA	22	16	72.73	0.3499
me7+em3	TGAGTCCAAACCGGACG GACTGCGTACGAATTGAC	21	17	80.95	0.3493
me3+em3	TGAGTCCAAACCGGACC GACTGCGTACGAATTGAC	15	12	80.00	0.3556
me2+em5	TGAGTCCAAACCGGAGC GACTGCGTACGAATTAAC	20	14	70.00	0.4073
Total		218	173	79.36	0.3664

表3 不同石蒜资源的多态谱带比率

Table 3 Percentages of polymorphic bands (PPB) in different wild resources of *L. radiata*

石蒜资源 Name of resources	总谱带数 Number of bands (Nb)	多态谱带数 Number of polymorphic bands (Npb)	多态谱带比率(%) Percentage of polymorphic bands (PPB)	石蒜资源 Name of resources	总谱带数 Number of bands (Nb)	多态谱带数 Number of polymorphic bands (Npb)	多态谱带比率(%) Percentage of polymorphic bands (PPB)
GD1	113	67	30.74	HB	119	73	33.49
GD2	114	68	31.19	ZJ	105	59	27.06
GX1	113	67	30.74	FJ	112	66	30.28
GX2	118	72	33.03	JS1	116	70	32.11
HN1	116	70	32.11	JS2	117	71	32.57
HN2	113	67	30.74	JS3	123	77	35.32
HN3	119	73	33.49	SX	122	76	34.86
HN4	111	65	29.82	SC	126	80	36.70
GZ1	128	82	37.61	YN	113	67	30.74
GZ2	128	82	37.61	AH1	102	56	25.69
GZ3	128	82	37.61	AH2	114	68	31.19
JX1	113	67	30.74	species	218	173	79.36
JX2	112	66	30.28				

的是 GD2 (0.46%), 平均为 3.76%; 而其余 13 份种源的样品间没检测到遗传差异 (表 4)。因此, SRAP 标记既能检测到不同地理种源的石蒜存在丰富的遗传多态性, 还能检测到同一种源内样品间的遗传差异。

用 POPGENE 计算出石蒜物种水平的观测等位基因数 (n_a)、有效等位基因数 (n_e)、基因多样性指数 (h)、Shannon 信息指数 (I) 分别为 1.7936、1.4131、0.2415 和 0.3664 (表 4), 表明石蒜的野生种质资源具有较为丰富的遗

表4 石蒜的遗传多样性与不同种源的遗传结构

Table 4 The genetic diversity of *L. radiata* and genetic structure of its resources

石蒜资源 Name of resources	等位基 因数 Observed number of alleles (<i>na</i>)	有效等位基 因数 Effective number of alleles (<i>ne</i>)	基因多样性 指数 Nei's gene diversity (<i>h</i>)	Shannon 多样性 指数 Shannon's information index (<i>I</i>)	同一种源内样品 间多态位点 Polymorphic sites within resource	同一种源内样品 间多态位点 百分比 PPB% within resource
GD2	1.0046	1.0014	0.0011	0.0018	1	0.46
GX2	1.0596	1.0433	0.0242	0.0352	13	5.96
HN1	1.0046	1.0032	0.0019	0.0028	1	0.46
HN2	1.0688	1.0447	0.0259	0.0384	15	6.88
HN3	1.0183	1.0130	0.0076	0.0111	4	1.83
HN4	1.0550	1.0366	0.0215	0.0318	12	5.50
JX1	1.0688	1.0458	0.0268	0.0395	15	6.88
HB	1.0138	1.0124	0.0065	0.0091	3	1.38
JS2	1.0183	1.0074	0.0051	0.0082	4	1.83
AH1	1.0183	1.0151	0.0081	0.0116	4	1.83
AH2	1.0459	1.0341	0.0189	0.0275	10	4.59
Species	1.7936	1.4131	0.2415	0.3664		

传多样性。石蒜不同种源间的遗传分化系数 (G_{st}) 达 0.9547、基因流 (N_m) 仅 0.0136, 表明种源间遗传分化显著。

2.2 石蒜资源的遗传相似性和聚类分析

根据 SRAP 数据计算出供试石蒜的遗传距离和遗传相似系数矩阵 (表 5)。不同种源间遗传距离越小, 其遗传相似系数就越大, 被检测的野生石蒜资源的 Nei's 遗传相似系数范围为 0.5942~1.0000。贵州境内 3 份石蒜资源的遗传相似系数达 1.0000, 说明它们之间不存在遗传差异, 具有最近的亲缘关系; 而四川忠县与安徽广德的种源之间遗传相似系数最小 (0.5942), 表明两者遗传差异最大, 亲缘关系最远。24 份野生石蒜资源基于遗传距离的 UPGMA 聚类图如图 2。

从图 2 可以看出, 以遗传距离 0.33 为阈值时, 24 份野生石蒜聚成两大类, 第 I 大类包括湖北武当山 (HB)、贵州 (GZ1、GZ2、GZ3)、四川忠县 (SC)、江苏连云港 (JS3) 和陕西城固 (SX) 共 7 份种源, 除 JS3 外, 均来自我国的西南或西北地区; 第 II 大类由其余的 17 份种源组成, 它们遍及华南、华中和华东地区。根据遗传距离, 每大类中又可分为不同亚类, 如第 I 大类中来自湖北武当山的石蒜 (HB) 与其它种源亲缘关系较远, 单独为一亚类, 而来自贵州、四川、陕西和连云港的种源具有较高的相似性, 聚成另一亚类。第 II 大类聚成 A、B 两个亚类,

B 亚类又明显分为 a、b、c 3 个分支, 其中 FJ、YN、JX2、GX1、GD1、GD2、HN1、HN3 8 份资源遗传相似性较高。

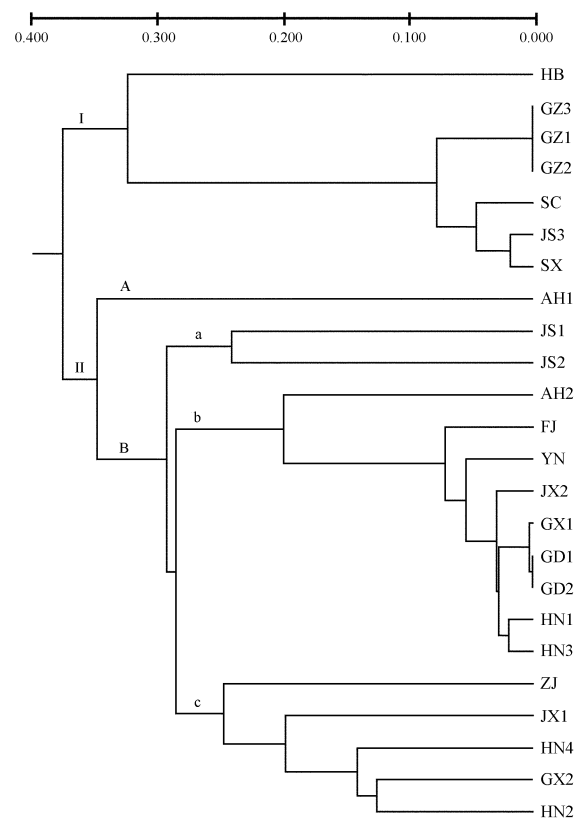


图2 24份野生石蒜资源 UPGMA 聚类图

Fig. 2 The UPGMA dendrogram of 24 wild resources of *L. radiata*

2.3 种源的遗传多样性与地理、气候资料的相关性分析

将基于 SRAP 数据获得的石蒜种源的遗传多样性与其所处的经度、纬度、海拔、年均降雨量、年均温等进行相关性分析,结果表明海拔与遗传多样性参数 (na , ne , h , I) 的相关性较高,但没达显著水平 (P 值分别为 -0.065 , 0.115 , -0.105 , $0.102 > 0.05$) (表 6)。说明石蒜对环境依赖性小,能分布在各种生境中,使其具有较高的遗传多样性水平。

表6 石蒜遗传多样性与地理气候资料的相关性

Table 6 The correlation between genetic diversity of *L. radiata* and geographic and climatic data

地理气候资料 Geographical and climatic data	na	ne	h	I
经度 Longitude (E)	0.131	0.167	0.170	0.172
纬度 Latitude (N)	-0.093	-0.055	-0.059	-0.061
海拔 Altitude (m)	-0.383	-0.331	-0.339	-0.342
年降雨量 Annual rainfall (mm)	0.221	0.282	0.283	0.283
年均温 Annual average temperature (°C)	0.063	0.026	0.031	0.033

3 讨论

本研究中野生石蒜的多态性百分比达 79.36%,不同地理种源间的多态性在 25.69%~37.61%之间,石蒜物种水平的基因多样性指数 0.2415,高于单子叶植物的平均值 0.190 (李群等,2005),表明在 DNA 水平上石蒜具有较丰富的遗传多样性。石蒜的遗传分化系数 (Gst) 高达 0.9547、基因流 (Nm) 仅 0.0136,表明野生石蒜资源间存在显著的遗传分化,遗传变异主要存在于不同种源间。从另一方面表明石蒜具有较宽的遗传基础,具有较为丰富的基因资源。利用 SRAP 标记还能检测到同一种源内样品间变异为 3.76%, $me1+em5$ 、 $me1+em6$ 引物组合在江苏江宁的种源中检测到了两条特征谱带,由此说明 SRAP 标记具有很强区分能力和标记效率 (Budak 等,2004b;文雁成等,2006)。

传统的分类学根据出叶期的不同,将石蒜属植物分为春出叶和秋出叶两大类型,石蒜为典型的秋天出叶物种。据作者连续两年观察,供试的

石蒜资源的盛花期和出叶期大致可分为两批,第一批盛花期在 8 下旬至 9 月初,9 月中下旬出叶;第二批盛花期为 9 月中下旬,10 月上旬出叶。从外部形态上看,叶片有粗细长短之分;花型有紧凑型 and 松散型;此外,花被片的皱缩程度、颜色和大小也存在一定差异,有些种质甚至出现花瓣苞片化、花瓣合生、花丝相连的奇特现象。聚在第 I 类中湖北武当山的石蒜 (HB),其花期早、叶片较宽,与花期迟、叶片较细的贵州 (GZ1、GZ2、GZ3)、陕西 (SX)、四川 (SC) 及江苏连云港 (JS3) 的种源遗传差异较大。第 II 大类中的亚类和各支的石蒜与其外部形态和生长发育习性也有一定的联系,如组成 b 支的 9 份石蒜资源 (占总数的 37.5%),除 AH2 以外均表现为鳞茎大、叶宽、花型紧凑、花期迟、绿叶期较长、结实率低、次生代谢产物加兰他敏含量低 (袁菊红等,2009);而组成 c 支的 5 份资源 (占总数的 20.83%) 与此恰好相反。因此,石蒜表型的多样性得到了 DNA 分子数据的支持。遗传多样性高的 GZ1、GZ2、GZ3、SC 种源和处在聚类图中基础地位的野生石蒜种源 (HB、AH1、JS1 和 JS2) 均是种质资源研究和遗传育种的重要材料。

造成种群分化的动力主要有遗传漂变 (Genetic drift)、自然选择和 DNA 转换 (turnover) 机制,选择的生境—变异模型提示了占有较窄生境的特定生物体的遗传变异通常较低 (阮成江等,2005)。野生石蒜种源遗传分化显著,其原因可能有以下几点:第一,石蒜的繁育系统。植物的基因流主要是借助花粉、种子、孢子、营养体等遗传物质携带者的迁移或运动来实现的,其中花粉和种子的扩散和传播是两种最主要的形式。但石蒜种子与花粉的传播能力有限,其有性生殖产生的个体只存在于 2~6 m 的空间内 (Chung, 1999),因此,天然状态下,石蒜种源间的基因交流很难通过种子与花粉的扩散方式进行。而用鳞茎进行无性繁殖可能加剧了石蒜种源间的遗传分化,与克隆植物禾本科沙鞭 (*Psam-mochloa villosa* (Trin.) Bor) 居群间产生明显的遗传分化的原因相似 (Li and Ge, 2001)。第二,地理隔离。本试验中多份石蒜种源采自于人烟稀少的山区,大的山脉阻碍了种质间的基因交流,导致种源间的遗传分化。第三,石蒜是石蒜属中

水平分布最广和垂直分布跨度最大的物种, 本研究中石蒜的遗传多样性与其所处的地理气候因素虽然没达显著相关, 但海拔与遗传多样性参数的相关性较高, 这可能在一定程度上有助于野生石蒜种源间的遗传分化。

物种保护从某种意义上说, 就是保护物种的遗传多样性或进化潜力。目前中国的野生石蒜资源十分丰富, 遗传多样性较高, 自然状态下的进化潜力很大, 不会自然濒危灭绝, 但随着园林中大量应用和作为药用开发后, 人们在经济利益的驱动下过度采挖, 很多地方的野生资源破坏严重。因此, 在保护石蒜遗传多样性的前提下, 完善种质资源的收集并深入开展组培快繁和品种选育研究, 以满足园林和药用之需, 从根本上解决野生石蒜资源的保护问题。

〔参 考 文 献〕

- 肖培根, 2001. 新编中药志 (第1卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 289—293
- 裴鉴, 丁志遵主编, 1985. 中国植物志, 第16卷第1分册 [M]. 北京: 科学出版社, 16(1): 18—27
- 阮成江, 何祯祥, 周长芳, 2005. 植物分子生态学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 67—70
- Budak H, Shearman RC, Parmaksiz I *et al.*, 2004a. Molecular characterization of buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, **108**: 328—334
- Budak H, Shearman RC, Parmaksiz I *et al.*, 2004b. Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, **109**: 280—288
- Chung MY, 1999. Clonal and spatial genetic structure in a population of the endangered herb *Lycoris sanguinea* var. *koreana* (Amaryllidaceae) [J]. *Genes & Genetic Systems*, **74** (2): 61—66
- Deng CL (邓传良), Zhou J (周坚), Lu LD (卢龙斗) *et al.*, 2006. Study on germplasm resources of *Lycoris longituba* (Amaryllidaceae) by RAPD and ISSR [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **28** (3): 300—304
- Ferriol M, Picó B, Nuez F, 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, **107**: 271—282
- Gilbert JE, Lewis RV, Wilkinson MJ *et al.*, 1999. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, **98**: 1125—1131
- Li G, Quiros CF, 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, **103**: 455—461
- Li A, Ge S, 2001. Genetic variation and clonal diversity of *Psammochloa villosa* (Poaceae) detected by ISSR Markers [J]. *Annals of Botany*, **87**: 585—590
- Li L (李丽), Zheng XY (郑晓鹰), Liu LW (柳李旺), 2006. Analysis of genetic diversity and identification of cucumber varieties by SRAP [J]. *Molecular Plant Breeding* (分子植物育种), **4** (5): 702—708
- Li Q (李群), Xiao M (肖猛), Guo L (郭亮) *et al.*, 2005. Genetic diversity of the rare and endangered plant *Trillium tschonoskii* in Sichuan Province [J]. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), **27** (4): 1—5
- Lin JZ, Yu ZZ, Hsu PS, 1990. Hybridization and breeding of *Lycoris* [A]. In: He SA ed. Proceedings of the International Symposium on Botanical Garden [M]. Nanjing: Jiangsu Science & Technology Publishing House, 557—568
- Liu YG (刘月光), Teng YY (滕永勇), Pan C (潘辰) *et al.*, 2006. Cluster analysis of *Nelumbo* based on SRAP Markers [J]. *Amino Acids & Biotic Resource* (氨基酸和生物资源), **28** (1): 29—32
- Qin WH (秦卫华), 2004. The systematic studies on the genus of *Lycoris* Herb. in China [D] (Master Degree Thesis). Wuhu: Anhui Normal University, 20—23
- Shao JZ (邵建章), Yang JG (杨积高), Zhang DC (张定成) *et al.*, 1994. The discovery of diploid *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb. from Anhui [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **32** (6): 549—552
- Wen YC (文雁成), Wang HZ (王汉中), Shen JX (沈金雄) *et al.*, 2006. Comparison of cultivar fingerprints constructed with SRAP and SSR markers in *Brassica napus* L [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences* (中国油料作物学报), **28** (3): 233—239
- Yeh FC, Boyle TJB, 1997. Population genetic analysis and codominant and dominant markers and quantitative traits [J]. *Belgian Journal of Botany*, **129**: 157
- Yuan JH (袁菊红), Quan JP (权俊萍), Hu MH (胡绵好) *et al.*, 2007. Establishment and optimization of SRAP-PCR amplification system for *Lycoris radiata* [J]. *Journal of Plant Resources and Environment* (植物资源与环境学报), **16** (4): 1—6
- Yuan JH (袁菊红), Hu MH (胡绵好), Zhang MX (张明霞) *et al.*, 2009. A quantitative taxonomic study of *Lycoris radiata* germplasm sources [J]. *Journal of Zhejiang Forestry College* (浙江林学院学报), **26** (5): 633—638